

TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES

Remitente: LA ADMINISTRACIÓN ENCARGADA
DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Destinatario:
Ignacio TEMIÑO CENICEROS
C/ COVARRUBIAS,9-2 -D
28010 MADRID
- ESPAÑA -

PCT

**OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL**

(Regla 43bis.1 del PCT)

| | | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| | | Fecha de expedición (día/mes/año) 31 MAR 2005 | 31 03. 2005 |
| Referencia del expediente del solicitante o del mandatario | | PARA CONTINUAR LA TRAMITACIÓN | |
| Solicitud internacional Nº PCT/ES2004/000528 | Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 26 NOVIEMBRE 2004 (26.11.2004) | Fecha de prioridad (día/mes/año) 04 DICIEMBRE 2003 (04.12.2003) | Véase el punto 2 |
| Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o a la vez clasificación nacional e IPC C12N15/67, 1/21, A61K48/00 | | | |
| Solicitante UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE, CEBOLLA RAMIREZ, Angel, y otros. | | | |

- La presente opinión contiene indicaciones relativas a los puntos siguientes:

| | |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> Recuadro I | Base de la opinión |
| <input type="checkbox"/> Recuadro II | Prioridad |
| <input type="checkbox"/> Recuadro III | No formulación de opinión sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial |
| <input checked="" type="checkbox"/> Recuadro IV | Falta de unidad de invención |
| <input checked="" type="checkbox"/> Recuadro V | Declaración motivada según la Regla 43bis.1.a)i) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración |
| <input type="checkbox"/> Recuadro VI | Ciertos documentos citados |
| <input type="checkbox"/> Recuadro VII | Defectos en la solicitud internacional |
| <input checked="" type="checkbox"/> Recuadro VIII | Observaciones relativas a la solicitud internacional |

2. CONTINUACIÓN DE LA TRAMITACIÓN

Si se hace una petición de examen preliminar internacional, esta opinión se considerará como una opinión escrita de la Administración encargada del examen preliminar internacional ("IPEA") salvo en aquellos casos en los que el solicitante elija una Administración distinta a ésta y, la IPEA elegida haya notificado a la Oficina Internacional según lo previsto en la Regla 66.1bis(b) que las opiniones escritas de esta Administración encargada de la búsqueda internacional no serán consideradas como tales.

Si esta opinión es, como se indica más arriba, considerada como una opinión escrita de la IPEA, se invita al solicitante a que presente ante la IPEA una respuesta por escrito junto con modificaciones, en su caso, antes de la expiración del plazo de 3 meses a contar desde la fecha de envío del formulario PCT/ISA/220 o antes de la expiración del plazo de 22 meses a contar desde la fecha de prioridad, aplicándose el plazo que expire más tarde.

Para otras opciones, consultar el formulario PCT/ISA/220.

3. Para más detalles, ver las notas del formulario PCT/ISA/220.

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la Búsqueda Internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
C/ Panamá, 1 - 28071 Madrid (España)
Nº de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado

Vizán Arroyo, José Luis

Nº de teléfono: **91 349 55 24**

OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ES2004/000528

Recuadro I. Base de la opinión

1. Por lo que respecta al idioma esta opinión se ha establecido sobre la base de la solicitud internacional en el idioma en el cual se depositó, salvo indicación en contra señalada a continuación.
 Esta opinión se ha establecido sobre la base de una traducción del idioma original al siguiente idioma _____, que es el idioma de una traducción proporcionada a los fines de la búsqueda internacional (según las Reglas 12.3 y 23.1 b)).
2. En lo que se refiere a las secuencias de nucleótidos y/o de aminoácidos divulgadas en la solicitud internacional y necesarias para la invención reivindicada, esta opinión se ha establecido sobre la base de:
 - a. Tipo de material
 una lista de secuencias
 tabla(s) relativa(s) a la lista de secuencias
 - b. Formato del material
 por escrito
 en soporte legible por ordenador
 - c. Fecha de presentación/entrega
 contenido en la solicitud internacional tal y como se presentó
 presentado junto con la solicitud internacional en formato legible por ordenador
 presentado posteriormente a esta Administración a los fines de la búsqueda
3. Además, en caso de que se haya presentado más de una versión o copia de una lista de secuencias y/o tabla relacionada con ella, se ha entregado la declaración requerida de que la información contenida en las copias subsiguientes o adicionales es idéntica a la de la solicitud tal y como se presentó o no va más allá de lo presentado inicialmente.
4. Comentarios adicionales:

Recuadro IV. Falta de unidad de invención

1. En respuesta al requerimiento (formulario PCT/ISA/206) para pagar tasas adicionales, el solicitante:
 - ha pagado tasas adicionales
 - ha pagado tasas adicionales bajo protesta
 - no ha pagado tasas adicionales
2. Esta Administración estima que no se cumple la exigencia de unidad de invención y decide no requerir al solicitante el pago de tasas adicionales.
3. Esta Administración estima que el requisito de unidad de invención, de acuerdo a las Reglas 13.1, 13.2 y 13.3:
 - se cumple
 - no se cumple por los siguientes motivos:

La presente invención se refiere a un método para controlar la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores que comprende un sistema regulador controlado por un efecto químico, un microorganismo portador del sistema regulador capaz de interaccionar con células de organismos superiores y, finalmente, salicilato o derivados del mismo como efecto del sistema regulador.

El concepto general único que subyace en la presente solicitud es, por tanto, el control de la expresión génica en microorganismos asociados a células de organismos superiores mediante sistemas reguladores cuyo efecto químico es el salicilato o un derivado del mismo.

La búsqueda ha revelado que el concepto general único no es inventivo, ya que de la combinación las enseñanzas aportadas por el documento de patente WO03063593 y el artículo científico de Sulavik, M.C. et al. [J. Bacteriol., (1997), 179(6):1857-1866] cabría esperar de forma razonable que el experto en la materia estaría confiado en desarrollar con éxito un procedimiento de control de la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en el sistema regulador del locus *mar* de *S. typhimurium* cuyo efecto es salicilato o moléculas derivadas del mismo.

Debido a que dicho concepto general único es conocido, no se cumplen los requisitos de la Regla 13.1 PCT.

Como tampoco se encuentran otras características que puedan considerarse como elementos técnicos particulares en el sentido de la Regla 13.2 PCT, existe falta de unidad de invención.

Así, se distinguen los siguientes grupos de invenciones:

- 1) **Invención 1.** (reivindicaciones: 1-3, 6, 9-27) relativa a un método para controlar la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en una proteína reguladora perteneciente a la familia LysR / Nahr y en el sistema regulador *nahR* / *Psal*.
- 2) **Invención 2.** (reivindicaciones: 1, 2, 4, 7, 9-27) relativa a un método para controlar la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en una proteína reguladora perteneciente a la familia XylS / AraC y en el sistema regulador *xylS* / *Pm*.
- 3) **Invención 3.** (reivindicaciones: 1, 2, 5, 9-20, 22-27) relativa a un método para controlar la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en una proteína reguladora perteneciente a la familia MarR.
- 4) **Invención 4.** (reivindicaciones: 1, 2, 8-27) relativa a un método para controlar la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en el sistema regulador en cascada *nahR/Psal::xylS/Pm*.

4. En consecuencia, la presente opinión se ha establecido con relación a las partes siguientes de la solicitud internacional:

todas las partes de la solicitud.

las partes relativas a las reivindicaciones Nos. _____

OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional Nº

PCT/ES2004/000528

Recuadro V. Declaración motivada según la Regla 43bis.1.a)ii) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

1. Declaración

| | | | |
|-----------------------|------------------|----------------------|----|
| Novedad | Reivindicaciones | 1-27 | Sí |
| | Reivindicaciones | | NO |
| Actividad inventiva | Reivindicaciones | 3, 4, 6-8, 21, 22 | Sí |
| | Reivindicaciones | 1, 2, 5, 9-20, 22-27 | NO |
| Aplicación industrial | Reivindicaciones | 1- 27 | Sí |
| | Reivindicaciones | | NO |

2. Citas y explicaciones

1. Los siguientes documentos han sido considerados en la elaboración de este informe:

D1: WO03063593-A. Fecha de Publicación, 07.08.2003.

D2: Sulavik, M.C. et al., J. Bacteriol., (1997), 179(6):1857-1866.

D3: US20030113293-A. Fecha de Publicación, 19.06.2003.

D4: Pawelek, J.M. et al., Lancet Oncol., (2003), 4(9):548-556.

D5: Cebolla, A. et al., Nucleic Acids Res., (2001), 29(3):759-766.

D6: Cebolla, A. et al., Appl. Environ. Microbiol., (2002), 68(10):5034-5041.

D7: US2001016354-A. Fecha de Publicación, 23.08.2003.

D8: Cohen, S.P. et al., J. Bacteriol., (1993), 175(24):7856-7862.

D1 y D3 describen métodos para controlar la expresión de genes heterólogos en mutantes bacterianos que presentan atenuadas su virulencia y toxicidad, derivados de *Salmonella*, caracterizados por el uso de sistemas reguladores del tipo promotor/efector. Entre los sistemas descritos se mencionan expresamente el promotor *tet* susceptible a tetraciclina y los promotores de genes del sistema SOS que se inducen en respuesta a un agente que daña el DNA.

D2 describe estructural y funcionalmente el locus *mar* de *Salmonella typhimurium*, implicado en la resistencia a antibióticos.

D4 describe el uso de bacterias atenuadas como vectores dirigidos a tumores para la liberación de agentes terapéuticos en el tratamiento del cáncer.

D5-D7 describen el diseño de circuitos artificiales para mejorar la expresión de genes de interés combinando los reguladores bacterianos NahR y XylS2 y los respectivos promotores *Psal* y *Pm* regulados en presencia del efector salicilato o derivados.

D8 describe el operón *mar* de *Escherichia coli* implicado en la resistencia a antibióticos y su inducción mediada por salicilato.

Continuación Recuadro V. Declaración motivada según la Regla 43bis.1.a)i) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración
Continuación 2.

2. NOVEDAD (Art 33(2) PCT).

2.1. La presente solicitud satisface el criterio establecido en el Artículo 33(2) PCT, pues el objeto de las reivindicaciones 1-27 es nuevo con relación al estado de la técnica definido en el Reglamento del PCT (Regla 33.1; a), b) PCT).

3. ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 33(3) PCT).

3.1. Reivindicación independiente 1.

3.3.1. El documento D1 se considera que representa el estado de la técnica más próximo. En él se describe un método de obtención de bacterias atenuadas de la estirpe *Salmonella*, modificadas genéticamente que expresan y liberan proteínas antitumorales heterólogas. En D1 se describen además diferentes métodos para controlar la expresión de los correspondientes genes heterólogos caracterizados por el uso de sistemas reguladores que responden a un inductor químico. Entre ellos se menciona expresamente el uso del promotor *tet* susceptible a tetraciclina o promotores de genes del sistema SOS que se inducen en respuesta a un agente que daña el DNA (cf. D1: página 78, línea 19-página 79, línea 29).

3.3.2. El problema técnico a resolver por el objeto de la reivindicación independiente 1 puede ser considerado, por consiguiente, como la provisión de un nuevo método para el control de la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores.

3.3.3. La solución propuesta es el método de la reivindicación 1 que comprende un sistema regulador para controlar la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores cuyo efecto químico es el salicilato o un derivado del mismo.

3.3.4. Esta solución no puede ser considerada inventiva por la siguiente razón: Para valorar adecuadamente la actividad inventiva de la solución propuesta por la solicitud internacional al problema técnico planteado es necesario considerar si, a la fecha de prioridad de la solicitud internacional, partiendo de la descripción del documento D1, el experto en la materia intentaría aplicar dicha solución con una expectativa razonable de éxito. Además, es preciso considerar si se plantearon dificultades técnicas no previsibles durante la puesta en práctica de dicho procedimiento. El estado de la técnica más próximo representado por D1 describe sistemas reguladores del tipo promotor / efecto químico usados en métodos para controlar la expresión de genes heterólogos en mutantes bacterianos, en particular de la especie *Salmonella*, caracterizados por presentar atenuadas su virulencia y toxicidad y cierto grado de afinidad o tropismo por células tumorales de organismos superiores. Por otro lado, en D2 se describe estructural y funcionalmente el locus *mar* de *Salmonella typhimurium*, implicado en la resistencia a antibióticos. En particular, se caracterizan de manera precisa la región operador-promotor *marO* del locus, las secuencias de los genes *marR* y *marA* codificadores del represor MarR y del inductor transcripcional MarA respectivamente, así como la inducción de la transcripción de dicho operón *mar* mediada por salicilato y compuestos derivados, similar a la observada en el correspondiente operón de *Escherichia coli*. (cf. D2: Resultados y Discusión de Resultados). Finalmente, en el estado de la técnica se encuentran descritos métodos de obtención de mutantes bacterianos atenuados, en particular de la especie *Salmonella*,

Sigue en página siguiente...

OPINIÓN ESCRITA DE LA ADMINISTRACIÓN
ENCARGADA DE LA BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional Nº

PCT/ES2004/000528

Continuación Recuadro V. Declaración motivada según la Regla 43bis.1.a)i) sobre la novedad, la actividad inventiva y la aplicación industrial; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración
Continuación 3.

caracterizados por presentar una menor virulencia y toxicidad, y el uso de los mismos como vectores para la distribución localizada de compuestos antitumorales gracias a su capacidad de proliferar preferentemente en tumores sólidos (cf. D1, D2, D3). Por todo ello y a la luz del documento D1, se concluye que cabría esperar razonablemente que el experto en la materia estaría confiado en desarrollar con éxito un procedimiento de control de la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en el sistema regulador del locus *mar* de *Salmonella typhimurium* combinando las enseñanzas aportadas por D1 y D2 y los conocimientos de uso y aplicación habitual en este campo de la biotecnología recogidos en cualquiera de los documentos D1-D4, D8.

Además, dicho método control de la expresión de genes heterólogos en microorganismos asociados a células de organismos superiores basado en un sistema regulador cuyo efecto es salicilato o derivados de él, aunque requiriendo un trabajo considerable, no presenta ninguna dificultad técnica imprevisible que, en el caso de haberse planteado, hubiera demostrado la falta de fundamento en la expectativa por parte del experto en la materia de llevar a cabo dicho proceso con éxito. Por esta razón, la solución propuesta por el objeto de la reivindicación independiente 1 al problema técnico planteado puede considerarse que no es inventiva.

En base a lo expuesto anteriormente, el objeto de las reivindicaciones dependientes 2, 5, 9-15 también se considera que no es inventivo.

3.2. Reivindicaciones independientes 20 y 23.

3.2.1. El objeto de la reivindicación 20 es un procedimiento para controlar la expresión de proteínas terapéuticas o de diagnóstico heterólogas en microorganismos asociados a células de organismos superiores consistente básicamente en una célula bacteriana portadora de un sistema regulador que puede ser controlado por salicilato o derivados como efecto químico y la administración de dicho efecto para inducir la expresión de la proteína heteróloga. El objeto de la reivindicación 23 es el uso de un sistema regulador de la expresión de genes heterólogos en bacterias asociados a células tumorales de un organismo superior controlado por salicilato o derivados. Teniendo en cuenta los documentos D1 y D2 y en base a los argumentos expuestos anteriormente se considera que el objeto de las reivindicaciones independientes 20 y 23, y el de las reivindicaciones dependientes 22-27 no es inventivo.

3.3. La presente solicitud, por consiguiente, no satisface el criterio establecido en el Artículo 33(3) PCT y el objeto de las reivindicaciones 1, 2, 5, 9-20, 22-27 no implica actividad inventiva (Reglas 65(1), (2) PCT).

4. APLICACIÓN INDUSTRIAL (Art. 33(4) PCT).

Todas las reivindicaciones 1-27 cumplen el requisito de aplicación industrial (Art. 33(4) PCT).

Recuadro VIII. Observaciones relativas a la solicitud internacional

Se formulan las observaciones siguientes sobre la claridad de las reivindicaciones, de la descripción y de los dibujos o sobre si las reivindicaciones se fundan totalmente en la descripción:

1. CLARIDAD (Art 5 y 6 PCT)

- 1.1. Los vectores pWSK-trp'::'lacZ, pWSK-GFP, pCAS-trp'::'lacZ y las estirpes bacterianas S17-1λpir pCNB4S2 y SL4S2 son una característica técnica de la presente invención, sin embargo, no están caracterizados de manera suficientemente clara y completa en la descripción de la solicitud internacional como para que la invención pueda ser realizada por un experto en la materia (Art 5 PCT). Como dichos vectores y estirpes son una característica esencial para poder llevar a cabo la presente invención, se le sugiere expresamente al solicitante que incluya una descripción detallada de todos ellos o en su lugar las posibles referencias bibliográficas en las que pudieran estar descritos.
- 1.2. El solicitante debe tener en cuenta el hecho de que la materia técnica introducida debería de haber estado disponible al público con anterioridad a la fecha de presentación de la solicitud para no incluir materia técnica que exceda la divulgación contenida en dicha solicitud tal como fue presentada, como establece el Artículo 28(2) PCT.